

# サボテンから分離される Cactus virus X

麻谷正義・井上忠男

緒

言

Molisch (12) によってサボテン科 (*Cactaceae*) *Epiphyllum* 属植物の表皮細胞中に多様な形態を有する特異な蛋白封入体 Proteinkörper (とくに紡錘形が代表的) が見つけられてより、主としてヨーロッパの多数の細胞学者によって、サボテン科40属の植物に同様な封入体が報告されている (Miličić & Udjbinac (11) による)。Molisch 以来、この封入体は貯蔵物質であるとの見方が一般的であったが、Rosenzopf (15) は、封入体のない個体を封入体のある個体に接木することによっても、また、後者の搾汁を注射することによっても前者に封入体が形成されること、さらに、細菌ろ過器を通した後も搾汁のこの性質は失われないことから、この封入体はウイルスに由来するのではないかと考えた (Amelunxen (1, 2) による)。Amelunxen (1, 2) は初めて電子顕微鏡観察を行ない、この封入体が大きさ  $500 \times 22 \mu\text{m}$  のひも状粒子の連鎖よりなることを明らかにするとともに、粒子が核蛋白からなることを証明した。Brandes & Wetter (7) は数種のサボテンから電子顕微鏡 dip 法で長さ  $515 \mu\text{m}$  と  $650 \mu\text{m}$  の2種のウイルス粒子を認め、それぞれ Cactus virus 1, Cactus virus 2 としたが、その後 Brandes & Bercks (6) は前者を Cactus virus X (CaVX) と命名した。同じように、Sammons & Chessin (16) はアメリカ合衆国の数種のサボテンから、長さ  $515 \mu\text{m}$  と  $300 \mu\text{m}$  の2種のウイルス粒子を観察した。後者は、その後、Wetter & Paul (17) によって詳しく研究された。

Miličić & Udjbinac (11) は CaVX が *Chenopodium album* と *C. amaranticolor* に局部病斑を生じ、病斑部の表皮細胞中に多数の紡錘形封入体が形成されるのを見つけた。その後、CaVX はサトウダイコン *Beta vulgaris* var. *rapa* f. *rubra*, フダンソウ *B. vulgaris* var. *cicla* およびムギセンノウ *Agrostemma githago* (以上10)、センニチコウ *Gomphrena globosa* (6, 8) に局部感染し、*Chenopodium quinoa* に全身感染することが判明した (6)。Brandes & Bercks (6)、Bercks & Brandes (4, 5) および Bercks (3) によって、分類学上 Potato virus X (PVX) 群に入るウイルス間の血清学的研究がなされ、CaVX が形態だけでなく、血清学上もこのウイルス群に入ることが確かめられた。本報告では、CaVX の諸性状について著者らの得た知見を記述する。なお、わが国では、すでに向らがこれまで未報告のサボテン科植物16属から新たに CaVX を分離し、同定を行っている (13)。

多数の複写文献を送付された農林省農業技術研究所渡辺恒雄氏に厚くお礼申し上げる。また、実験遂行に種々ご援助いただいた当研究室光畑興二氏に深く感謝の意を表わす。

## 実験材料と方法

1967年7月、鹿児島県川内市で採集したウチワサボテンの1種 *Opuntia* spp., 同年9

月、香川県小豆郡池田町で採集したウチワサボテンの1種 *Opuntia* spp. および当研究所で保存中のカニサボテン *Schlumbergera Russelliana* から CaVX が分離され、それぞれを CaVX-1, CaVX-2, CaVX-3 とした。本報では、主として、CaVX-1 について実験を行なった。汁液接種は 0.1 M pH 7.0 リン酸緩衝液とカーボラダムを用いた常法によった。検定植物には *Chenopodium quinoa* を用いた。本ウイルスは、後述のように、保存限度が長いために、接種葉からの戻し接種が困難な場合もあり、このようなときには表皮細胞中に封入体が認められるかどうかによって判定した。実験はファイロン温室で行なった。その他の実験法については各項目にそれぞれ記述する。

## 実 験 結 果

### 1. 封 入 体

CaVX を分離したウチワサボテン、カニサボテンの原株および汁液接種で感染させた植物の表皮をはがし、ヨード・ヨードカリ液（水 100ml に I<sub>2</sub> 4g, IK 8g）または Bald のギムザ染色によって、容易に多数の封入体を検出することができた。前の方法で、はがした組織片の縁にあって、破壊された細胞から染色液中にはみ出した封入体を観察できたので、この染色液中では封入体の崩壊が起こらないことがわかった。サボテンでは、ごく若い扁平に封入体が見られないこともあり、古い扁平の方が封入体はよく発達している。また、はがした表皮の部位によっても、封入体の形態に著しい相違が認められた。さらに、後述のアカザ科、ヒユ科などの植物でも、接種葉表皮細胞から多様な形態の封入体を検出することができた。もっとも典型的な形態は、両端または一端がとがり、表面が円滑または長軸方向に繊維束様のすじのある紡錘形で、細長いものからずんぐりしたものまであり、しばしば一方に曲って三日月状またはループとなる（図版 II-A, E）。この外、表面が粗くて太いこん棒様のもの、よじれたすじのある毛糸束様のもの、薪束あるいは柱状岩石塊様のもの、輪、8の字、太くてところどころ分枝しているひもが輪になったり、不規則にからまったりしたものなどが観察された（図版 II-B, C, D）。Miličić (9) が記載した細胞核内封入体は、本報の観察の範囲内では、見つけることができなかった。一部黄化し始めた *C. amaranticolor* 接種葉から比較的大きく表皮をはがすことができるが、これを検鏡すると、よく発達してほとんど細胞全体に広がった巨大な封入体のある細胞群、ついで、その周囲を紡錘形または中央が太くなった円柱状封入体が存在する細胞群が取り囲み、さらに、その周辺に数本の針状封入体の存在する細胞群が分布し、これらの同心円状に展開する細胞群の中間地帯では封入体のない細胞群が存在するのが観察された。これらの観察から、最初、1細胞中数本もあった針状封入体が次第に集合しながら発達し、最終的には、もっとも普通に見られる1—3本の紡錘形になるものと考えられる。

一方、CaVX-1, CaVX-2 および CaVX-3 をそれぞれ別の *C. amaranticolor* に同時に接種し、その後形成される封入体の形態を比較検鏡した結果、もっとも特徴的な形態はつぎの通りであった。i) CaVX-1: 少なくとも一端が鋭くとがり、長軸に沿ってすじがある細長い紡錘形が特徴的であるが、感染中心部ではさらに発達した太いこん棒様塊も認められる。ii) CaVX-2: 表面が粗く、長軸方向に沿って乱れたすじのあるこん棒形が感染

中心部で多く、ついで両端のとがり方が鈍い細長い紡錘形も観察され、CaVX-1 と区別しにくい。iii) CaVX-3: 薪束または長軸に沿って平行なすじのある柱状岩石塊様封入体が多数観察される(図版 II-C, D)。この結果、CaVX-3 の作る封入体が他の分離株のそれと異っているように見える。しかし、封入体の形態は、おそらく、接種葉のウイルス感染による生理的变化の程度、ウイルス増殖の速さ、最終ウイルス濃度などと密接な関係があるであろうから、つねにこれら分離株間に差異を認めることができるかどうか速断はできない。

## 2. 寄主範囲と病徴

CaVX の寄主範囲と病徴に関する報告は数少なく(6, 8, 10, 11)、寄主植物の種類も、サボテン科を除けば、数種を越えない。また、これらの記載は、病徴や病徴発現に要する期間などで、著者らの結果と必ずしも一致していない。著者らの分離した CaVX の寄主と代表的な病徴を以下に記述する。汁液接種のための接種源には *C. quinoa* の接種葉を用いた。

*Chenopodium quinoa*: 接種後 4～5 日で、接種葉に直径 0.5mm 以下のえそ斑点または輪点を生じるか、あるいは、最初、病斑部だけに緑色が残る、他の葉面全体が退色し始めてから、緑点の中心にえそが現われる(図版 I-D)。一般に、若い葉が前者のように、古い下葉は後者のように反応する傾向がみられる。やがて病斑が拡大し、葉の黄化が進むと落葉する。このような葉では、病斑部に限らず、葉の裏面の表皮をはがして検鏡すると、ほとんど接種葉全域から多様な形態の封入体を多数観察することができる。CaVX-1 および CaVX-2 は全身感染しなかったが、CaVX-3 は接種後約 2 週間で上葉に軽いモザイクを現わし(図版 I-C)、封入体の存在が確かめられた。

*Chenopodium amaranticolor*: 接種後 4～5 日で、接種葉に直径 0.5mm 以下のえそ斑点またはえそ輪点を生じ、病斑の周縁部は不鮮明な退緑となって拡大する(図版 I-A)。その後、えそ斑点の外縁は赤色となる。一方、中心がえそとならないで、退緑斑点のまま、接種葉の黄化が始まると、周囲に緑色部分が残ることもある(図版 I-B)。接種葉は、黄化が進むと、落葉する。全身感染は見られなかった。病斑部表皮細胞中にはよく発達した多数の封入体が観察される。一方、CaVX-3 は、接種葉での病徴が軽く、病斑がえそとなることはまれであり、通常、ごく不鮮明な退緑斑点を生じるか、葉が黄化し始めてから、かすかな緑点がとり残されるかのいずれかである。しかし、封入体はよく発達し、ほとんど接種葉全域から検出される。CaVX-3 も全身感染しなかった。

*Chenopodium murale*: 接種後 5～6 日で、接種葉に直径 1mm 以下の退緑斑点を生じ、やがて接種葉の黄化が始まると、病斑の周縁に緑色が残る、ときには中心部がえそになることもある(図版 I-F)。下葉に接種すると、単に緑点を生じ、葉の黄化とともに、中心がえそとなる(図版 I-E)。病斑部表皮細胞中に封入体が形成される。全身感染しなかった。

サトウダイコン *Beta vulgaris* var. *rapa*: 接種後 6～7 日で、接種葉に直径約 2mm の退緑斑点を生じ、その後、病斑の拡大と葉の黄化が始まると、その周縁は、最初、緑色の、ついで赤色の輪点となる(図版 I-K)。古い葉に接種すると、黄化が早まり、緑点のみを生じる。病斑部表皮細胞中に封入体が観察される。

フダンソウ *Beta vulgaris* var. *cicla*: 接種後 6~7 日で、接種葉に直径 1~2mm の退緑斑点を生じ、後に、周縁部は赤変して輪点を形成する (図版 I-G, H)。しかし、接種葉が早く黄化する下葉では緑点だけにとどまる。病斑部表皮細胞中に封入体が検出される。

センニチコウ *Gomphrena globosa*: 接種後 7~10 日で、接種葉に少数の直径 1~2mm のえそ斑点を生じ、後に周縁部は赤変して輪点となる。全身感染しなかった。病斑部表皮細胞中には封入体が検出される。

ヒユの 1 種 *Amaranthus* spp.: 接種後 5~7 日で、接種葉が黄化し始め、緑点がり残される。後に病斑の中心にえそが現われ、ついには落葉する (図版 I-J)。病斑部表皮細胞中に封入体が観察される。全身感染しない。

ツルナ *Tetragonia expansa*: 接種後 6~7 日で、接種葉にえそ斑点を生じ、ついで、えその周縁部にだけ緑色を残して、葉の黄化が始まる (図版 I-I)。病斑部の表皮細胞中に封入体がみられる。

ヒマワリ *Helianthus annuus*: 子葉に接種して約 3 週間後に、直径 2~3mm のえそ輪紋を生じる (図版 I-L)。病斑部表皮細胞中に封入体が形成される (図版 II-E)。

ジャコサボテン *Zygocactus truncatus*: 接種後に新しく伸びた扁基に凹んだ濃緑 (扁基が赤い場合には赤) の斑点を生じ (図版 I-M)、表皮細胞中に紡錘形封入体が多数観察された (図版 II-A)。

下記の植物には感染しなかった。

*Nicotiana glutinosa*, *N. rustica*, *N. tabacum* var. *Samsun*, *N. tabacum* var. *Xanthi*, ベチュニア *Petunia hybrida*, シロバナヨウシュチョウセンアサガオ *Datura stramonium*, ソラマメ *Vicia faba*, エンドウ (仏国大英) *Pisum sativum*, キンギョソウ *Antirrhinum majus*, キンケイソウ *Coreopsis drummondii*, キンレンカ *Tropeolum majus*, レタス (グレートレックス) *Lactuca sativa*, ダリア *Dahlia* spp., ジニア *Zinnia elegans*, ホウレンソウ (ピロフレイ) *Spinacia oleracea*。

### 3. 物 理 性

病斑を多数生じた *C. quinoa* の接種葉 4g に、0.1M pH 7.0 リン酸緩衝液 40ml/を加

第 1 表 CaVX の 物 理 性

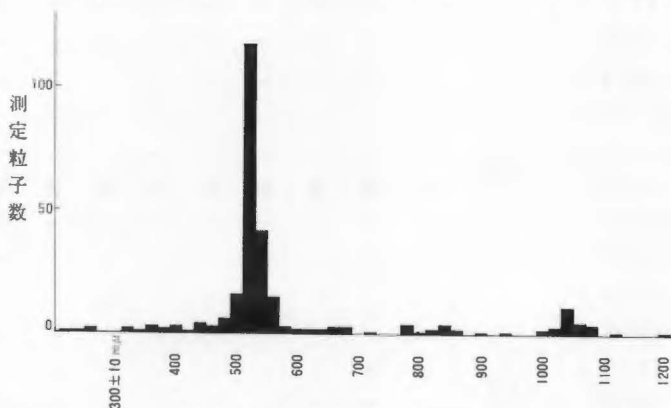
不 活 化 温 度 (°C, 10分)								
対照	55	60	65	70	75	80		
>600*	>600	>600	470	1.5	0	0		
希 釈 限 度								
10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>		
>600	>600	311	51.2	14.5	0	0		
保 存 限 度 (日, 20°C)								
0	1	2	4	8	16	32	48	64
>600	>600	>600	>400	174	104	201	164	39.8

\* *Chenopodium quinoa* の 4~5 枚の接種葉に生じた local lesion の葉 1 枚当りの換算数。

えて摩砕し、二重ガーゼでろ過後、約 1,300g で 10 分遠心分離して得た上澄を物理性試験に用いた。接種は常法により、検定植物には *C. quinoa* を用いた。結果を第 1 表に示す。CaVX-1 の粗汁液中における不活化温度は 70~75°C (10 分加熱)、希釈限度は  $10^{-6}$ ~ $10^{-8}$ 、保存限度は 64 日以上 (20°C) であった。

#### 4. 電子顕微鏡観察

部分純化した試料では、多くのウイルス粒子が長く連なり、粒子の長さを決定する目的には適さないことがわかったので、dip 法試料により電子顕微鏡観察を行なった (日立 HS-6 型による)。粒子計測の基準には tobacco mosaic virus (TMV, 300×15mμ) を用いた。粒子の長さの測定には shadowing 法を、幅の測定には direct negative staining 法 (DN法) を用いた。結果を第 1 図に示す。20mμ 間隔で区分すると、最頻階級値は 510~530mμ にあり、normal length は約 523mμ と算出された。一方、ウイルス粒子の直径は約 13mμ であった。



第 1 図 CaVX 粒子の長さの分布

#### 5. 血清試験

CaVX-1 を接種した *C. quinoa* 接種葉を冷凍庫に貯蔵し、これを純化材料とした。200g の *C. quinoa* に 300ml の 0.5M pH 7.5  $K_2HPO_4$ ・ $KH_2PO_4$  緩衝液を加えてすり鉢中で摩砕し、二重ガーゼを通した。これに 200ml のクロロホルム・ブタノール混液 (1:1) を加えて振とうし、直ちに約 1,200g で 15 分遠心分離し、得られた上澄をさらに約 5,500g で遠心分離し、その上澄を約 70,000g で 70 分高速遠心分離した。沈澱に 0.02M pH 7.5 ホウ酸緩衝液を加え、テフロンホモジェナイザーを用いて溶かし、約 6,500g で 10 分遠心分離した。この分画遠心分離操作を 2 回反復して、得られた上澄を G-100 Sephadex カラムに通し、さらに分画遠心分離を 1 回行なって部分純化試料を得た。全体で 580g の *C. quinoa* 凍結葉から得られた部分純化試料を、最初から 5 回目までは 1 週間間隔でウサギに静脈注射し、あとの 2 回はそれぞれ 10 日および 2 週間間隔で adjuvant との混液を筋肉注射した。最後の注射から 30 日目に全採血を行ない、得られた力価 1,024 倍の抗血清を用いて、Brandes らの分類で PVX 群に属する他の 3 つのウイルス、PVX, white clover mosaic virus (WCMV) および Cymbidium mosaic virus (CyMV) との間の血清試験を行なった。各ウイルスは次の植物で増殖させた。CaVX: *C. amaranticolor* と *C. quinoa*, WCMV: ソラマメ, PVX: タバコ, CyMV: シンビジウム。各抗原は搾汁を約 5,500g で 10 分遠心分離した上澄を用いた。微凝集反応試験は常法により行ない、37°C で 30 分加温した後、低倍率顕微鏡および立体顕微鏡下で反応を調べた。結果を第 2

表に示す。

第 2 表 CaVX, WCMV, PVX および CyMV と各抗血清との反応\*

抗 原	抗 血 清	抗 血 清 希 釈												生 理 食 塩 水
		× 1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	
CaVX-1	CaVX-1	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	+	+	-	-
CaVX-2		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	+	+	-	-
CaVX-3		冊	冊	冊	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
WCMV		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PVX		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CyMV		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CaVX-1	WCMV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CaVX-2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CaVX-3		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
WCMV		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	+	-	-	-
PVX		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CyMV		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CaVX-1	PVX	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CaVX-2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CaVX-3		冊	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
WCMV		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PVX		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	+	+	-	-
CyMV		冊	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CaVX-1	CyMV	冊	冊	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CaVX-2		冊	冊	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CaVX-3		冊	冊	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
WCMV		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PVX		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CyMV		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	+	+	-

\* 微凝集反応法による。

同種ウイルス—抗血清間反応で、CaVX-3 は抗 CaVX-1 血清と 4 倍までは強く反応したが、そこから急激に反応が弱まり、わずかに 8 倍までしか反応しなかった。生成した沈澱の状態でも、CaVX-1 と CaVX-2 がともに低倍希釈で特徴的な薄膜状の大きな集塊を形成したのに対し、CaVX-3 の沈澱は集塊が小さく、両者の間に差異が認められた。CaVX-3 抗原の電顕観察および *C. amaranticolor*, *C. quinoa* 接種葉表皮細胞中の封入体を検鏡した結果、ウイルス濃度は十分に高いものと推定された。一方、異種ウイルス—抗血清間反応では、抗 PVX 血清が CaVX-3, CyMV と反応し、抗 CyMV 血清が CaVX-1, CaVX-2, CaVX-3 と反応した。これとは別に、予備実験的に寒天ゲル拡散法も行なった。抗血清はすべて 1 倍を用い、抗原は生葉を 0.1M pH7.0 リン酸緩衝液で 5 倍に希釈したものを用いた。寒天は 0.8% とし、0.02% のマーゾニン (sodium ethylmercurithio-



salicylate)を加えた。抗原穴と抗血清穴との間隔は0.6cm, 各穴の直径は0.8cmとした。この方法で, CaVX-1 および CaVX-2 と抗 CaVX-1 血清との間に明瞭な沈降帯を生じたが, CaVX-3 は沈降帯を形成しなかった。この外の抗血清—抗原組み合わせでの試験は現在継続中である。

## 考 察

サボテン科植物のウイルスとして、これまで知られているものに Cactus virus X (6), Cactus virus 2 (7) および Sammons' opuntia virus (17) がある。Brandes らは、まず、ウイルス粒子の大きさと形態から、これら3つのウイルスをそれぞれ PVX 群, Potato virus S (PVS) 群および TMV 群に分類し、同一ウイルス群に属するウイルスが血清学的にも近縁であることを証明しようと試みた。本報で著者らが記載したウイルスは、形態において PVX 群に入ることが明らかとなり、特異な封入体、寄主範囲、物理性より CaVX と同定された。

封入体については、Molisch (12) 以来多数の記載があり (11), わが国でも向ら (13) によって、サボテン科 30 属 40 種より封入体が検出されている。著者らはウチワサボテンの1種とカニサボテンから、また汁液接種したサボテン科以外の植物からも、多数の封入体を観察した。

寄主範囲については、サボテン科以外の植物として、これまで次の植物が記載されている。*Chenopodium amaranticolor* (11), *C. album* (11), *C. quinoa* (6), サトウダイコン *Beta vulgaris* var. *rapa* f. *rubra*, フダンソウ *B. vulgaris* var. *cicla*, ムギセンノウ *Agrostemma githago* (以上10), センニチコウ *Gomphrena globosa* (6, 8)。著者らは、さらに、*Chenopodium murale*, ツルナ *Tetragonia expansa*, ヒユの1種 *Amaranthus* spp. およびヒマワリ *Helianthus annuus* を新たな寄主として記載した。

CaVX に感染したサボテン科植物の病徴について、Chessin ら (8) は、病汁を注射した *Opuntia* spp. で、18ヶ月後に若い扁茎に縮れを伴う退緑斑紋を生じ、さらに、先端から黄化してえそとなると記している。著者らが分離した CaVX の中で、CaVX-1, CaVX-3 では原株に病徴は認められなかったが、CaVX-2 を分離した *Opuntia* spp. では若い扁茎に退緑斑紋を生じ、冬期には古い扁茎にも著しかった。また、接種したシャコサボテンに濃緑の凹みが認められたが、これもおそらく病徴と見てよいものと思われる。

Miličić (10) は *C. amaranticolor* 接種葉から試料をつくり、検定植物にも同じ植物を用いて、 $10^{-4}$ ~ $10^{-5}$  の希釈限度値を報告し、Brandes ら (6) は不活化温度を約  $80^{\circ}\text{C}$  としている。著者らは *C. quinoa* をウイルス源および検定植物として、不活化温度  $70$ — $75^{\circ}\text{C}$ , 希釈限度  $10^{-5}$ ~ $10^{-6}$ , 保存限度 64 日以上 の値を得た。同時に行なった *C. amaranticolor* を検定植物とする希釈限度試験によれば、*C. amaranticolor* は *C. quinoa* よりも感受性が低いと考えられた。

Amelunxen (2) は純化試料を用いて CaVX 粒子の大きさを測定し、 $500 \times 22\text{m}\mu$  の値を得たが、shadowing 法によったため、幅の値は明らかに大き過ぎる。Sammons ら (16) は長さ  $515\text{m}\mu$  のウイルス粒子を観察し、Brandes ら (6) は CaVX 粒子の大きさを  $519 \times 13\text{m}\mu$  とし、PVX よりも形態はやや硬いと報告した。著者らは CaVX-1 について測定を行なった結果、 $523 \times 13\text{m}\mu$  の値を得た。

PVX 群に属するウイルス間の血清学的な関係については、すでに Brandes & Bercks (6), Bercks & Brandes (4, 5) および Bercks (3) の詳細な報告がある。Bercks (3) は 55 の抗 PVX 血清と CaVX, clover yellow mosaic virus (CYMV), hydrangea ringspot virus (HyRV) および WCMV を反応させ、その中でそれぞれ 39, 24, 34 および 39 の抗血清が各ウイルスと反応するのを認めた。さらに、抗血清の濃縮によって、反応する抗血清数と最高反応希釈値を上げることに成功した。Brandes & Bercks (6) は濃縮抗血清を用いて、CaVX と抗 PVX 血清間で最高 64 倍まで、抗 CaVX 血清に対し、PVX, WCMV および HyRV はそれぞれ最高 64 倍、2 倍および 32 倍まで反応するのを認めた。Bercks & Brandes (5) によれば、CaVX, HyRV, PVX および WCMV が抗 CYMV 血清と反応し、CYMV が抗 PVX-, 抗 HyRV-, 抗 WCMV- および抗 CaVX 血清と反応したのを除けば、これらウイルスと抗血清間に異種反応 (heterologous reaction) はまったく認められなかった。

PVX 群中、CaVX, 当研究室で保存中の PVX, WCMV および CyMV と各抗血清を用いて、これら全ての組み合わせについて微凝集反応試験を行なった結果、CaVX-1 および CaVX-2 と CaVX-3 との間に次のような差異を見出した。すなわち、抗 CaVX-1 血清に対し、CaVX-1 と CaVX-2 がともに 1,024 倍まで反応したのに比べ、CaVX-3 は 8 倍までしか反応しなかったこと；抗 PVX 血清に対して、CaVX-1 と CaVX-2 は反応しなかったが、CaVX-3 は 2 倍まで反応したこと。また、CaVX の 3 分離株とも抗 CyMV 血清と 8 倍まで反応した。この外、異種ウイルス—抗血清間の組み合わせで反応が見られたのは CyMV—抗 PVX 血清の組み合わせで、反応は 2 倍までであった。Bercks (3) の主張のように、たとえば、濃縮による高力価血清を用いるならば、これらのウイルス間の血清学的な近縁関係がさらに明確にされる可能性があるように思われるが、本報では検討できなかった。さらに、著者らが扱った 4 種のウイルスのほかに、PVX 群のウイルスで本邦で同定され、抗血清が作成されているものに hydrangea ringspot virus があり (14)、これを含め、また、現在各地の研究機関で保存中のウイルスと抗血清を合わせて試験してみることは興味深いことであろう。CaVX-3 が血清反応で他の 2 つの分離株とは異なる反応を示した理由は本報の試験だけでは十分解明されなかった。CaVX-3 については今後さらに粒子の形態、封入体、寄生性、物理性などを詳しく比較し、抗血清を作成して検討を加える予定である。

## 摘

## 要

サボテン X ウイルス Cactus virus X (CaVX) をウチワサボテン属の 1 種から 2 株 (CaVX-1, CaVX-2), カニサボテンから 1 株 (CaVX-3) 分離し、主として、CaVX-1 について諸性状を調べた。CaVX-1 は *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *C. murale*, サトウダイコン, フダンソウ, センニチコウ, ヒユの 1 種, ツルナ, ヒマワリに感染して局部病斑を生じ、ジャコサボテンに全身感染し、凹んだ緑点を生じたが、CaVX-3 だけは *C. quinoa* に全身感染した。感染植物の表皮細胞中には、多数の、多様な形態をもった封入体が観察された。*C. quinoa* 接種葉をウイルス源とし、*C. quinoa* を検定植物とした物理性試験で、不活化温度 70~75°C, 希釈限度  $10^{-5}$ ~ $10^{-6}$ , 保存限度 64 日以上 の値を得



た。ウイルスはひも状で、大きさは約  $520 \times 13 \text{m}\mu$  と測定された。 *C. quinoa* 接種葉から CaVX-1 の純化を行ない、部分純化試料をウサギに注射し、力価 1,024 倍の抗血清を得た。これと当研究室保存の PVX, WCMV, CyMV およびそれぞれの抗血清を用いて血清試験を行なった結果、抗 CaVX-1 血清に対し、CaVX-2, CaVX-3 はそれぞれ 1,024 倍、8 倍まで反応したが、WCMV, PVX, CyMV はいずれも反応しなかった。抗 WCMV 血清に対しては、他のウイルスはまったく反応せず、抗 PVX 血清に対しては、CaVX-3 と CyMV がともに 2 倍まで反応したが、他のウイルスは反応しなかった。抗 CyMV 血清に対しては、CaVX の全分離株がともに 4 倍まで反応したのに対し、WCMV と PVX は反応しなかった。

## 文 献

1. Amelunxen, F. 1956. Über die Strukturanalyse der Eiweißspindeln der *Cactaceae*. Protoplasma 45 : 228—240.
2. Amelunxen, F. 1958. Die Virus-Eiweißspindeln der Kakteen. Darstellung, elektronenmikroskopische und biochemische Analyse des Virus. Protoplasma 49 : 140—178.
3. Bercks, R. 1963. Untersuchungen über individuelle Unterschiede von Antiseren gegen Kartoffel-X-Virus bei Reaktionen mit verwandten Viren. Phytopathol. Z. 47 : 301—313.
4. Bercks, R. and Brandes, J. 1961. Vergleichende serologische und elektronenmikroskopische Untersuchung des Weißkleemosaik-Virus, des Hydrangea ringspot virus und des Kartoffel-X-Virus. Phytopathol. Z. 42 : 45—56.
5. Bercks, R. and Brandes, J. 1963. Elektronenmikroskopische und serologische Untersuchungen zur Klassifizierung des clover yellow mosaic virus. Phytopathol. Z. 47 : 381—390.
6. Brandes, J. and Bercks, R. 1963. Untersuchungen zur Identifizierung und Klassifizierung des Kakteen-X-Virus (Cactus virus X). Phytopathol. Z. 46 : 291—300.
7. Brandes, J. and Wetter, C. 1959. Classification of elongated viruses on the basis of particle morphology. Virology 8 : 99—115.
8. Chessin, M., Solberg, R. A. and Fischer, P. C. 1963. External symptoms and Giemsa-stainable cell inclusions associated with virus infection in cacti. Phytopathology 53 : 988—989.
9. Miličić, D. 1954. Viruskörper und Zellteilungsanomalien in *Opuntia brasiliensis*. Protoplasma 43 : 228—236.
10. Miličić, D. 1962. Neue Wirtspflanzen des Kakteenvirus. Ber. dtsh. bot. Ges. 75 : 172—178.
11. Miličić, D. and Udjinac, Z. 1961. Virus-Eiweißspindeln der Kakteen in Lokalisationen von *Chenopodium*. Protoplasma 53 : 584—596.
12. Molisch, H. 1885. Über merkwürdig geformte Proteinkörper in den Zweigen von *Epiphyllum*. Ber. dtsh. bot. Ges. 3 : 195—202.
13. 向 秀夫・中村重正・近藤典生. 1967. サボテンのウイルス病について(1). 日植病報. 33 : 345.
14. 小畑琢志・山本洋祐. 1968. 輸入アジサイの Hydrangea ringspot virus について. 横浜防

疫所調査研究報告 6 : 13—18.

15. Rosenzopf, E. 1951. Sind Eiweißspindeln Virus-Einschlußkörper? *Phyton* 3 : 95—101 (Miličić, 1962 による).
16. Sammons, I. M. and Chessin, M. 1961. Cactus virus in the United States. *Nature* 191 : 517—518.
17. Wetter, C. and Paul, H. L. 1967. Serologische und physikalische Eigenschaften von Sammons' *Opuntia* Virus. *Phytopathol. Z.* 60 : 92—95.

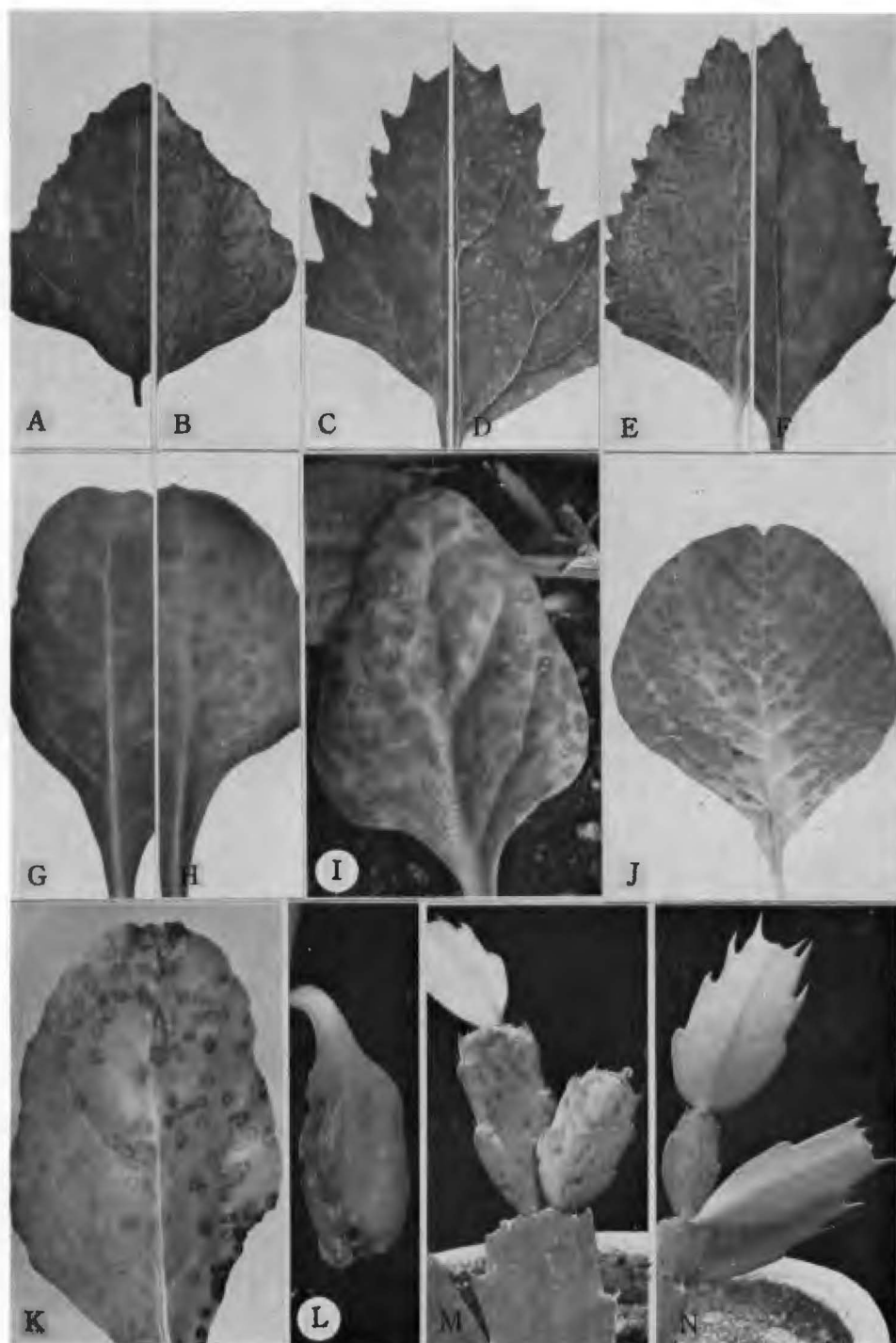


圖 版 I

図版説明

図版 I. CaVX に感染した寄主植物の病徴.

- A. 周縁が退緑となったえそ病斑を生じた *Chenopodium amaranticolor* 接種葉 (CaVX-1).
- B. 黄化し始めた *C. amaranticolor* 接種葉. 周縁に緑色の残った退緑斑点 (CaVX-2).
- C. 全身感染し, 軽いモザイクを現わした *C. quinoa* の上葉 (CaVX-3).
- D. えそ病斑を生じた *C. quinoa* 接種葉 (CaVX-1).
- E. 黄化し始めた *C. murale* 接種葉. えそ微点の周縁が緑色の斑点となる (CaVX-1).
- F. 病斑の周縁が一部黄化し始めて, 退緑斑点の周縁が緑色の輪点となった *C. murale* (CaVX-1).
- G. 退緑斑点を生じたフダンソウ接種葉 (CaVX-1).
- H. 黄化し始めたフダンソウ接種葉に生じた赤色の輪点 (CaVX-1).
- I. ツルナ接種葉. えその周縁が緑色の斑点となり, 他の部分は黄化が早い (CaVX-1).
- J. 緑色斑点を生じ, 黄化し始めたヒユの1種の接種葉 (CaVX-1).
- K. サトウダイコン接種葉. 最初, 退緑斑点を生じ, 葉の黄化とともに, 病斑の周縁は緑色の輪点となり, ついで, 赤色の輪点となる (CaVX-1).
- L. 褐色のえそ輪点を生じたヒマワリ接種葉 (CaVX-1).
- M. シャコサボテン. 新しく伸びた扁平に生じた凹んだ緑点 (CaVX-1).
- N. 健全シャコサボテン.

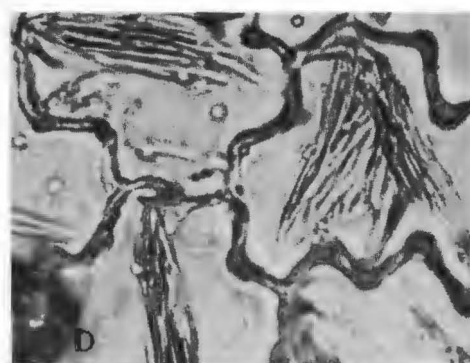
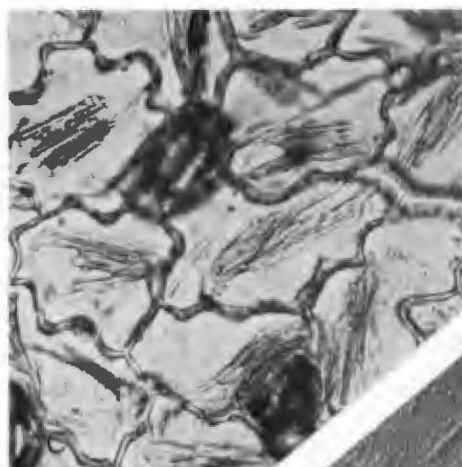
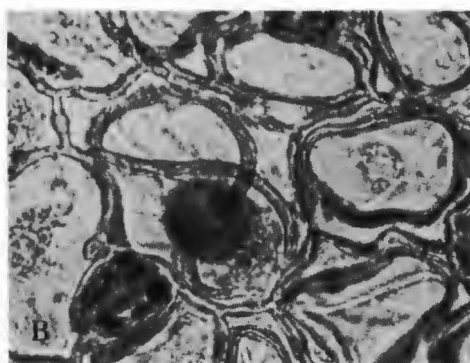


图 版 II

図版説明

図版 II. CaVX 感染植物の表皮細胞中に見られる封入体の光学顕微鏡写真と CaVX 粒子の電子顕微鏡写真.

- A. CaVX-1 を接種したシャコサボテン表皮細胞中に見られた紡錘形封入体 (Bald のギムザ染色).
- B. CaVX-2 に感染した *Chenopodium amaranticolor* 接種葉表皮細胞中に形成された多様な形態の封入体. 8 の字形, 輪などが見える (ヨード・ヨードカリ液染色).
- C. CaVX-3 に感染した *C. amaranticolor* 接種葉表皮細胞中に形成された柱状岩石塊様封入体 (ヨード・ヨードカリ液染色).
- D. C と同じ.
- E. CaVX-1 に感染したヒマワリ接種葉表皮細胞中に観察された紡錘封入体 (ヨード・ヨードカリ液染色).
- F. CaVX-1 に感染した *C. quinoa* 接種葉から作った dip 法試料の電子顕微鏡写真 (クロム蒸着, 40,000倍).